

大腸菌の増殖速度に対するドデシル ベンゼンスルホン酸ナトリウムの影響

矢 島 エイ子・水納谷 民太郎

（昭和54年10月30日受理）

Effects of sodium dodecyl benzene sulfonate on the growth rate of *Escherichia coli*

Eiko YAJIMA and Tamitaro MIZUNOYA

Abstract

The effects of sodium dodecyl benzene sulfonate (DBS), one of the representative surfactants for synthetic detergents, on the growth rates of *Escherichia coli* K-12 (λ), *E. coli* C-600 and *E. coli* B_{S-1} cells were investigated in connection with the surface tension of the medium. The optimum surface tension values for the growth of three strains were lower than the common values obtained for many bacteria. In higher regions than the critical micelle concentration, the growth rates of three strains showed different patterns of variations. The K-12 (λ) and B_{S-1} cells stopped the growth in the medium of surface tension at 23.5 dyne/cm and the C-600 cells at 22 dyne/cm.

緒 論

合成洗剤の主成分として開発された界面活性剤のうち、初期に使用された分枝型アルキルベンゼンスルホン酸（ABS）は微生物によって分解されにくいために、環境汚染の主因として使用禁止となり、微生物によって分解され易い直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸（LAS）が使用されるようになった。しかし、LASの流れこむ河川の全てに、LAS分解菌が生棲しているとは限らないし、日本のように急流河川の多いところでは、分解されるいとまもなく、海に流れこんで海洋汚染の原因となる恐れもある。また下水処理設備の行き届いた国々では、LAS分解菌を用いて効果をあげているが、下水処理設備が普及していない日本では、そのような効果はほとんど期待できない。

一方LAS分解菌によるLAS分解の機構はかなり明らかにされているが⁽¹⁾、LASを分解しない菌に対するLASの影響はあまり知られていない。細菌汚染した野菜類あるいは食器類についての中性洗剤による除菌効果を認めた報告はある^(2,3,4,5)が、これらは中性洗剤による洗浄効果であって、この除菌作用がそのまま殺菌作用であるとは考えられない。LAS非分解菌自体に対するLASの影響についての研究はあまり見出されないようなので、われわれは洗剤と同様、水質汚染の指標になる大腸菌を用いて、この問題を明らかにしてみたいと考えた。LASとして代表的なドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムを培地に加えて、*Escherichia*

coli K12(λ), 同じく *E. coli* C600 および *E. coli* B_{s-1}の三菌株の増殖速度に対する影響を検討して、若干の知見を得たので報告する。

実 験 材 料

1) 使用菌株

Escherichia coli K12(λ), *E. coli* C600 および *E. coli* B_{s-1}の三菌株を用いた。

2) 使用培地

菌の静置培養には、食塩 1 g とポリペプトン 2 g を蒸留水に加え、全容を 200 ml とする λ ブロースに粉末コウボエキス 1 % を添加して、pH7 に調整した培地を用いた（以下これをエキスブローズと称する）。増殖速度の測定には、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム（以下これを DBS と称する）を終末濃度 1 % ~ 10⁻⁵ % になるようにエキスブローズに加えたものを培地として使用した。これらの薬品はすべて和光純薬から購入したものをそのまま使用した。

実 験 方 法

1) 菌浮游液の調製

エキスブローズ 10 ml に 1 エーゼの菌をそれぞれ接種し、37°C で 16 時間静置培養した。

2) 増殖方法

37°C で 16 時間静置培養した菌浮游液 0.1 ml を、滅菌したそれぞれ濃度の異なる DBS を含むエキスブローズ溶液 10 ml に接種し、37°C でモノー式振盪培養をおこなった。

3) 増殖速度の測定

37°C でモノー式振盪培養をおこなっている間、10 分おきに島津ボッシュロム光電比色計スペクトロニック 20 を用いて、660nm における吸光度を測定して菌濃度の変化を追跡した。菌の増殖速度は、その菌の対数増殖期の勾配から、平均世代時間 T を求めた。すなわち吸光度は、その値が 0 から 0.2 附近までの間では菌の濃度に比例するので、次の式が成り立つ。

$$A = \varepsilon \cdot C \dots\dots\dots (1)$$

A は吸光度、 ε は吸光係数、C は菌の濃度である。縦軸に吸光度 A の対数値をとり、横軸に時間 t をとると、その対数増殖期（直線部分）の勾配 K（比増殖速度）は次式で求められる。

$$K = \frac{\log A_2 - \log A_1}{t_2 - t_1} \dots\dots\dots (2)$$

(1) および (2) 式から平均世代時間 T との関係を求めることができる。すなわち、

$$K = \frac{\log C_2 - \log C_1}{t_2 - t_1} = \frac{\log 2}{T} \dots\dots\dots (3)$$

K を最小二乗法で求め、(3) 式より T の値を求めてその逆数を菌の増殖速度とした。

4) 表面張力の測定

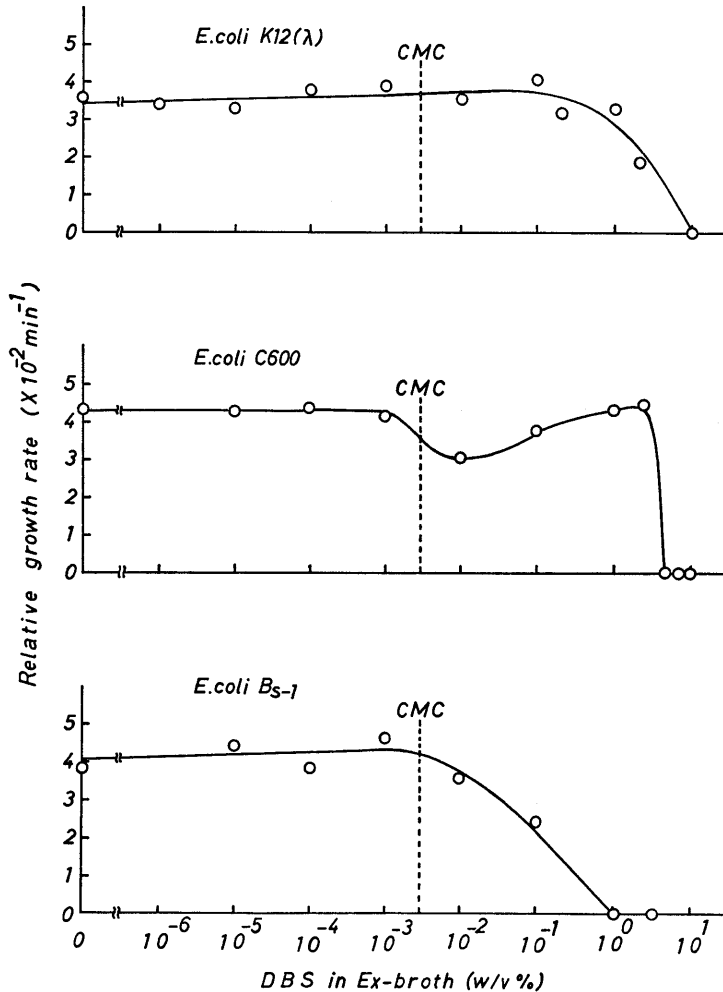
デュヌイの張力計 (Du Noüy tensiometer) を用いて輪環法で測定した。

実 験 結 果

1) DBS 濃度と増殖速度

第 1 図に示すように、DBS の濃度と各々の菌の $1/T$ との関係を見ると、菌株によって増殖速度の変化のパターンに差異のあることが認められる。三つの菌株のうち、K12(λ) は、DBS の濃度が 10⁻⁶ w/v % から 10⁻¹ w/v % へと濃くなるにつれてわずかずつその増殖速度は大きくなり、10⁻¹ w/v % のところで最大となって、それよりも更に濃くなると増殖速度は減少し、

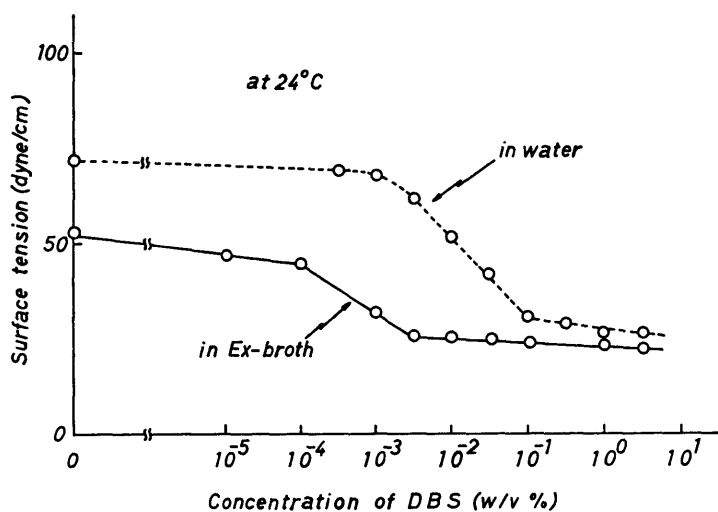
10w/v%で1/Tの値は0となる。またC600の場合は、DBSの濃度が 10^{-3} w/v%までは、それより薄い場合と増殖速度はほぼ同じであるが、 10^{-3} w/v%より濃くなると、増殖速度は一旦低下して、 10^{-2} w/v%で極小値となり、再び大きくなって、3w/v%のとき最大となる。濃度がさらに大きくなると急激に減少して、5w/v%で0となる。B_{s-1}の場合は、K12(λ)と同じように、DBSの濃度が大きくなるにつれて、増殖速度は次第に大きくなり、 10^{-3} w/v%より濃くなると、徐々に低下し1w/v%で0となる。



第1図 *E. coli* の増殖速度に対するDBS濃度の影響。

2) 臨界ミセル濃度と増殖速度

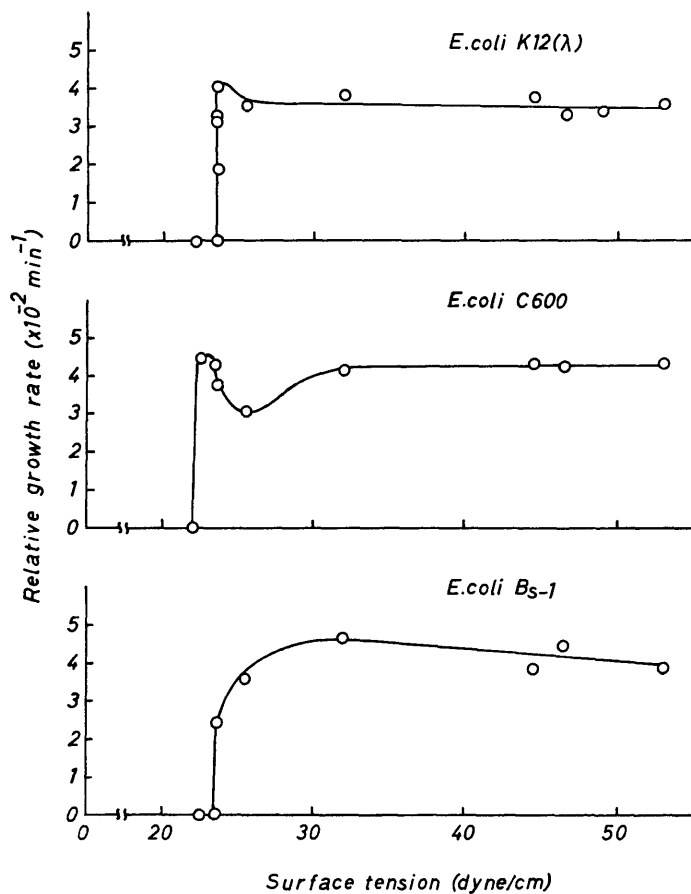
DBSの濃度変化に伴う表面張力の変化と菌の増殖速度の変化との対応をみるために、まずDBSのエキスブローズ溶液について、その表面張力を測定した。第2図に示すように、その臨界ミセル濃度(CMC)は 3×10^{-3} w/v%で、DBS水溶液に比べて低濃度側に移行している。これは洗剤の場合のビルダー添加と同じ効果を示している。このCMCと菌の増殖速度との関係を考察すると、B_{s-1}の場合は増殖速度がCMCからより高濃度にかけて次第に低下している。また、C600もCMC附近から高濃度にかけて一旦低下する。一方K12(λ)においてはCMC附近で増殖速度は低下せず、CMCより10倍も濃い濃度で最大となり、それより濃度が増すにつれて速度は次第に低下した。



第2図 DBSのエキスブローズ溶液および水溶液の表面張力。

3) 最適表面張力

三つの菌株の表面張力に関する増殖特性をみるため、表面張力と増殖速度との関係を第3図



第3図 *E. coli* の増殖速度に対する表面張力の影響。

に示した。これによると、K12(λ) は 24 dyne/cm, C600は23 dyne/cm, B_s-1 は32 dyne/cmで増殖速度は最大となり、一般に言われている微生物の増殖速度にとっての最適表面張力 45~65 dyne/cm⁽⁶⁾ よりはるかに小さい表面張力で、なお盛んに増殖する。

4) 増殖停止をおこす表面張力

K12(λ) とB_s-1は、表面張力が 24 dyne/cm より小さくなると増殖速度は急激に小さくなり、23.5 dyne/cm で0になる。一方C600は、表面張力が25.5 dyne/cm で一旦増殖速度は極小値をとり、さらに表面張力が小さくなると再び増殖速度は大きくなるが、最適表面張力23 dyne/cm よりわずか1 dyne/cm差の 22.0 dyne/cmで急激に小さくなって0になる。

考 察

三菌株とも表面張力が変化する濃度範囲すなわちCMCより低濃度では、増殖速度にあまり大きな変化は認められないが、CMC以上の濃度すなわち表面張力がほぼ一定になった濃度範囲では、それぞれ特異な変化パターンを示している。B_s-1, C600両株とも、CMC附近の濃度からより高い濃度にかけて増殖速度が低下することは、界面活性剤溶液の諸物性たとえば伝導度、表面張力、浸透圧などがCMC附近の濃度を境にして急変する⁽⁷⁾ ことからすると、至極当然な現象と考えられる。ただ増殖速度低下の原因が、如何なる物性の急変に基づくのか、さらにC600の増殖速度が高濃度領域で一旦低下したのち、また上昇するのは如何なる理由によるのか、また逆にK12(λ) の増殖速度がCMC附近での諸物性の急変にもかかわらず、CMCをはるかに上回る濃度になるまで著しい変化を示さないことも、如何なる理由にもとづくのか、これらの問題については今後解明してゆきたいと考えている。

またK12(λ) およびC600は最適表面張力より僅かに小さい表面張力で、増殖速度は急激に低下、増殖が停止する。B_s-1は最適表面張力より表面張力が小さくなると増殖速度は徐々に小さくなるが、やはり22 dyne/cmで増殖は停止する。表面張力のはなはだしい低下によって、細胞内外の浸透圧平衡がくずれ、細胞膜の浸透性に支障をきたし、重要な代謝物質の溶出をまねくということが知られている⁽⁸⁾ ので、この場合もDBS・エキスブローズ溶液の表面張力の低下が菌の増殖停止の原因の一つではないかと考えられる。一方イオン性表面活性剤は、蛋白質を変性させ、さらには酵素活性に影響する可能性も認められている⁽⁹⁾ ので、菌の増殖阻止が単に表面張力の影響だけによるものかどうかは、以上の実験だけでは判定できない。界面活性剤が菌の細胞表面とどのように関係しているか、DBS以外の界面活性剤ではどうなるか、また上記以外の大腸菌ではどうかなどの問題については、今後さらに検討して行く予定である。

結 論

- 1) *E. coli*の三菌株K12(λ)、C600およびB_s-1の増殖速度は、界面活性剤DBSによって影響を受ける。
- 2) 特に、C600株とB_s-1株はDBSのCMCより大きい濃度で増殖速度の低下がみられるが、K12(λ) 株ではCMCの影響がみられない。
- 3) C600株はDBSのCMCより高濃度で特に異なった増殖速度の変化パターンを示している。
- 4) 上記三つの菌株のDBS・エキスブローズ溶液における増殖の最適表面張力は、K12(λ) 株は24 dyne/cm、C600株は23 dyne/cmそしてB_s-1株は32 dyne/cmであり、いずれの場合も一般に言われている値より小さくなっている。

謝 辞

本研究にあたり、デュヌイの張力計を貸与して下さった物理学教室の柴田昇教授に謝意を表します。

参 考 文 献

- (1) 浅原照三：化学総説，**2**，137（1973）
- (2) 今木，福田，川村：栄養と食糧，**15** (2)，145（1963）
- (3) 武原：食品衛生研究，**16** (7)，83（1966）
- (4) 浦久保ら：衛生化学，**6** (1)，4（1958）
- (5) 森田：臨床栄養，**24** (3)，48（1964）
- (6) 関文威：水界微生物生態研究法（生態学研究法講座11），p.99，共立出版（1976）
- (7) J. L. Moilliet and B. Collie：“Surface Activity”，p. 14（1950）